

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA**

MURILO CARIONI

**CONTROLE DE COLIFORMESTERMOTOLERANTES EM
OSTRAS CULTIVADAS NA FAZENDA MARINHA PARAÍSO DAS
OSTRAS**

**FLORIANÓPOLIS-SC
2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA**

MURILO CARIONI

**CONTROLE DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM
OSTRAS CULTIVADAS NA FAZENDA MARINHA PARAÍSO DAS
OSTRAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência para obtenção do Diploma de Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Santa Catarina. Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sandra Regina Souza Teixeira de Carvalho.

**Florianópolis - SC
2017**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Carioni, Murilo Carioni

Controle de coliformes termotolerantes no cultivo de ostras na Fazenda Marinha Paraíso das ostras : Controle de coliformes termotolerantes no cultivo de ostras / Murilo Carioni Carioni ; orientador, Sandra Regina Souza Teixeira de Carvalho Teixeira de Carvalho, coorientador, Deise Helena Baggio Baggio, 2017.

46 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Graduação em Zootecnia, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

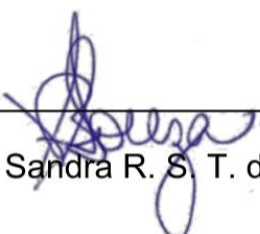
1. Zootecnia. 2. Cultivo de ostras . 3. Contaminação de moluscos. 4. Purificação de moluscos. 5. Depuração. I. Teixeira de Carvalho, Sandra Regina Souza Teixeira de Carvalho. II. Baggio, Deise Helena Baggio . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Zootecnia. IV. Título.

MURILO CARIONI

**CONTROLE DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM OSTRAS
CULTIVADAS NA FAZENDA MARINHA PARAÍSO DAS OSTRAS**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do
Título de Bacharel em Zootecnia e aprovado em sua forma final.

Florianópolis, 26 de Novembro de 2017.



Prof.ª Dr.ª Sandra R. S. T. de Carvalho

Orientador

BANCA EXAMINADORA



Prof.ª Dr.ª Deise Baggio



Prof. Dr Anderson Martins



Felipe Ozekoski
Zootecnista

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos são muitos...

Em primeiro lugar a Deus, sem Ele, nada seria possível. Ele nos dá a direção, o caminho e a força para seguirmos em busca de nossos sonhos e objetivos.

Agradeço aos meus pais pela chance de viver com saúde, trabalhar com dignidade e estudar com tranquilidade. A eles meus sinceros agradecimentos.

Aos meus filhos, Gabriel e Artur, por suportarem minha ausência sem reclamar e sempre estarem ao meu lado. Agradeço também a mãe deles, Carolina, por todo incentivo, cooperação e apoio nesta caminhada.

À minha esposa Fernanda, mãe de Maria Antônia, que com paciência aturou meus momentos difíceis. A ela, meu amor e respeito.

Aos meus irmãos de sangue, parceiros de uma vida.

À Professora Sandra, minha orientadora, que mesmo com tantos compromissos sempre cordial e gentil.

De uma forma geral agradeço a todas as pessoas que de alguma forma colaboraram com minha formação. Sejam os amigos que tornaram o caminho mais fácil ou os que o tornaram mais desafiador, todas tiveram sua função.

Muito obrigado!

RESUMO

O presente trabalho teve por finalidade avaliar a incidência de coliformes termotolerantes na Fazenda Marinha Paraíso das Ostras. Para isso foram feitas buscas na literatura acerca da importância dos moluscos como alimento, a ostreicultura no Brasil e em Santa Catarina, a possibilidade da contaminação devido ao seu hábito alimentar e a depuração como forma de purificação de ostras contaminadas. A metodologia consistiu em analisar os tecidos das ostras em laboratório para fazer a contagem do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes e confrontar com as normas vigentes no país e no mundo, o peso também foi analisado. As amostras foram divididas em dois tratamentos: ostras que passaram pelo processo de depuração durante 12 horas e ostras que não foram depuradas. Os resultados demonstram que empreendimento está na vanguarda da produção em Santa Catarina, apresenta boas práticas no controle sanitário e zela pela segurança alimentar dos consumidores, os resultados não apresentaram diferenças na contagem de coliformes termotolerantes em ostras avaliadas antes e depois da depuração.

Palavras chave: Ostreicultura, Contaminação, Qualidade de água, Depuração.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	7
2.	OBJETIVO GERAL.....	8
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
3.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	9
3.1	AQUICULTURA NO MUNDO	9
3.1.1	Ostreicultura no Brasil.....	10
3.1.2	Ostreicultura em Santa Catarina.....	14
3.1.3	Ostras Cultivadas no Brasil e em Santa Catarina	16
3.2	CONTAMINAÇÃO EM MOLUSCOS	18
3.2.1	Coliformes Termotolerantes.....	20
3.2.2	Controle sanitário da produção de moluscos.....	21
3.2.3	Legislação Internacional.....	22
3.2.4	Legislação Nacional	24
3.3	MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO DE MOLUSCOS	26
3.3.1	Depuração de moluscos.....	27
4.	METODOLOGIA.....	30
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	33
6.	CONCLUSÕES	38
7.	REFERÊNCIAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

Os moluscos bivalves pertencem ao grupo dos alimentos de alto valor nutritivo, ricos em minerais, vitaminas e ácidos graxos poliinsaturados. Os ácidos graxos poliinsaturados são importantes aliados da saúde, diminuem o risco de formação de coágulos, o que permite uma proteção contra doenças cardiovasculares, bem como redução do colesterol LDL (*Low Density Lipoproteins*, que significa lipoproteínas de baixa densidade, também chamado de "mau colesterol"). Ademais, apresentam um conjunto de proteínas essenciais ao correto crescimento e desenvolvimento, entre outras propriedades organolépticas (NUNES *et al.*, 2008; CORREIA, 2016).

A microbiota das ostras, o molusco mais cultivado no mundo, está diretamente relacionada ao ambiente do qual ela se origina (ZAMARIOLI *et al.*, 1997). Devido ao fato de se alimentarem de pequenas partículas suspensas no meio envolvente, os moluscos bivalves bioacumulam bactérias autóctones ou de origem antropogênica sendo, por este motivo, extremamente suscetíveis à contaminação (REES *et al.*, 2013). A contaminação dos moluscos e peixes cultivados nas áreas costeiras é uma preocupação global de saúde pública (BERNARDI *et al.*, 2016).

Os riscos associados ao consumo de moluscos determinaram, em muitos países, o desenvolvimento de um conjunto de normas próprias no processo de comercialização, baseadas em análises microbiológicas da água de cultivo e/ou de seu músculo. A maioria dos padrões normativos quantifica coliforme, pois este grupo é indicador de contaminação fecal (MACHADO *et al.*, 2001).

Santa Catarina é o principal estado produtor de ostras, sendo responsável por 98,1% da produção brasileira (IBGE, 2016). De forma a dar resposta ao aumento da demanda de moluscos bivalves e se adequar as normas que norteiam a comercialização e a segurança alimentar é salutar a utilização de um processo que permita a redução do teor microbiológico de moluscos, o processo de depuração (MIRANDA, 2013).

2. OBJETIVO GERAL

- Avaliar a presença de coliformes termotolerantes em ostras cultivadas na Fazenda Marinha Paraíso das Ostras.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar como é realizado o processo de depuração;
- Enumerar os coliformes termotolerantes antes e depois da depuração;
- Verificar se há diferença no NMP de coliformes termotolerantes entre os tratamentos;
- Apresentar o histórico da ostreicultura;
- Apresentar métodos de purificação de moluscos;
- Apresentar aspectos da legislação que regulam o controle sanitário na produção de moluscos.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A fundamentação teórica deste trabalho tem por finalidade dar embasamento aos conceitos e temas apresentados, assim como subsidiar o leitor com informações importantes sobre as discussões que permeiam o tema. Os tópicos tratam sobre o cenário da aquicultura no mundo, a ostreicultura no Brasil e em Santa Catarina, os problemas advindos do consumo de moluscos contaminados e a depuração como sistema de purificação.

3.1 AQUICULTURA NO MUNDO

A aquicultura é a arte de cultivar organismos aquáticos, incluindo peixes, crustáceos, moluscos e plantas aquáticas. Constitui-se uma importante atividade econômica nas regiões costeiras de diversos países, oferecendo oportunidades para contribuir com a redução dos níveis de pobreza, proporcionando maior desenvolvimento das comunidades, bem como a redução da exploração de recursos naturais e costeiros (SEIFFERT, 2003).

Pelo seu expressivo desempenho nos últimos anos, a aquicultura foi o setor de produção de alimentos que mais cresceu no mundo. No período 2000/2012, a aquicultura cresceu 6,7%, enquanto no mesmo período a produção do milho cresceu 4,7%, a avicultura cresceu 3,3%, o trigo 1,4%, a bovinocultura e o cultivo do arroz, 1,2%. A suinocultura e a pesca decresceram 1% e 0,2% respectivamente (Seafoodbrasil, 2015).

A oferta mundial per capita de pescado alcançou um novo máximo histórico de 20 kg em 2014, graças a um intenso crescimento da aquicultura, que na atualidade proporciona a metade de todo o pescado destinado ao consumo humano, e a uma ligeira melhora da situação de determinadas populações de peixes como consequência de uma melhor ordenação pesqueira (FAO, 2016).

Segundo FURTADO (2017), pescado é todo animal que vive normalmente em água doce ou salgada e que é utilizado para alimentação. Estão inclusos peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada.

Além de ser uma fonte rica em proteínas de alta qualidade e fácil digestão que contêm todos os aminoácidos indispensáveis, o pescado proporciona gorduras essenciais (por exemplo, ácidos graxos ômega 3 de cadeia longa), vitaminas (D, A e B) e minerais (como cálcio, iodo, zinco, ferro e selênio). Também contribui ao desenvolvimento do cérebro e do sistema nervoso em fetos e crianças. Graças a suas valiosas propriedades nutricionais, pode ser decisivo para corrigir as dietas em países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos (FAO, 2016).

Em 2014 a produção aquícola mundial foi de 73,8 milhões de toneladas compostas por: 49,8 milhões de toneladas de peixes de escama, 16,1 milhões de toneladas de moluscos, 6,9 milhões de toneladas de crustáceos e 7,3 milhões de toneladas de outros animais aquáticos como as rãs. No que diz respeito aos moluscos da classe bivalvia, esses representaram, em 2015, 42% da produção mundial de organismos cultivados em águas marinhas (FAO, 2016)

No Brasil, em 2015, a aquicultura continuou crescendo em relação aos últimos anos e atingiu um valor de produção de R\$ 4,39 bilhões, com a maior parte (69,9%) oriunda da criação de peixes, seguida pela criação de camarões (20,6%). Todas as 27 Unidades da Federação e 2 905 municípios brasileiros apresentaram informações sobre algum produto da aquicultura (IBGE, 2015).

O relatório da FAO 2016, o Estado Mundial da Pesca e Aquicultura 2016 (SOFIA) estima que o Brasil deva registrar um crescimento de 104% na produção da pesca e aquicultura em 2025. Segundo o estudo, o aumento na produção brasileira será o maior registrado na região, seguido de México (54,2%) e Argentina (53,9%) durante a próxima década. O crescimento no país se deve aos investimentos feitos no setor nos últimos anos.

3.1.1 Ostreicultura no Brasil

Uma das vertentes da aquicultura é a maricultura, caracterizada como a arte de cultivar organismos marinhos: algas, crustáceos, peixes, moluscos, etc.

É uma atividade antiga que nos últimos anos vem crescendo em todo o mundo e adotando novas técnicas modernas e sustentáveis, como alternativa a pesca e ao extrativismo, que se encontra em declínio acentuado em todo o mundo. Constitui também um fator de desenvolvimento sócio econômico na medida em que introduz tecnologias baratas e acessíveis que podem ser desenvolvidas pelas comunidades pesqueiras artesanais (MONTIBELLER, 2002).

A malacocultura, o cultivo de moluscos (Ostras, mexilhões, berbigões e vieiras) é um tipo de maricultura. É uma atividade produtiva conhecida no mundo ocidental desde a época de domínio do Império Romano, onde já se produzia, processava (cozimento e preservação em óleo comestível) e se transportava pelo mar da Itália até a península ibérica (DORE, 1991)

Espalhado pela Europa desde o século XII, o consumo e cultivo desses organismos propiciou a existência de um processo de industrialização já nos séculos XV e XVI, com transporte e comercialização regular entre diversos pontos da Europa. O grande aumento do consumo levou à efetivação dos cultivos comerciais na primeira metade do século XX (DORE, 1991).

No Brasil, essa atividade conta com registros desde o ano de 1934. Documentos não oficiais apontam sobre as vantagens do cultivo de moluscos, mais precisamente das ostras. A publicação redigida pelo Comandante Alberto Augusto Gonçalves denominada “O Futuro Industrial da Ostreicultura no País”, foi apresentada no Primeiro Congresso Nacional de Pesca, organizado pelo então Ministério da Agricultura – Divisão de Caça e Pesca, há 64 anos. Esta publicação pode ser considerada o primeiro manual de cultivo de ostras no Brasil, já fazia menção à espécie japonesa *Crassostrea gigas* e seus possíveis métodos de cultivo (POLI, 1996).

Segundo POLI *et al* (2004), as primeiras tentativas de cultivo de moluscos marinhos com um interesse comercial tiveram início em 1971 com uma espécie de ostra nativa ao litoral brasileiro, também conhecida como “ostra do mangue” (*Crassostrea rhizophorae*). Estes experimentos se deram em Salvador (BA) e em Santa Catarina, na Associação de Crédito e Assistência Pesqueira de Santa Catarina (ACAPESC).

Em 1973 Wakamatsu, pioneiro nas pesquisas referentes aos moluscos bivalves, em Cananéia (SP), define uma série de metodologias para o cultivo de

ostras no Brasil, quando começa o cultivo da ostra nativa de mangue (*Crassostrea brasiliiana*) e publica um Manual de Cultivo no mesmo ano. Todos esses projetos tiveram pouca duração, pois se originaram em instituições de pesquisa, não envolvendo situação real de comercialização nem produtores (POLI, 1993).

O ano de 1974 marca a entrada da ostra japonesa *Crassostrea gigas* no Brasil. Os primeiros exemplares foram importados pelo Instituto de Pesquisas da Marinha de Cabo Frio e eram oriundas da Grã-Bretanha. Alguns cultivos experimentais foram realizados no estado do Rio de Janeiro, mas sem maiores consequências econômicas (POLI, 1993).

No início dos anos 80, o primeiro e grande projeto de cultivo de ostras a nível industrial, foi implantado em Cananéia pelo Sr. Jacques Debevois, que pode ser considerado o pioneiro deste tipo de empreendimento. Seu trabalho influenciou o desenvolvimento desta atividade no Brasil. Esta iniciativa foi a primeira a enfrentar comercialmente todas as experiências desta atividade, desde a obtenção de sementes, a engorda, comercialização, burocracia, enfim, todo o universo real da produção (POLI, 1993).

Em 1983, a Universidade Federal de Santa Catarina, por meio do Departamento de Aquicultura, conseguiu o apoio necessário para iniciar os cultivos da ostra japonesa através do projeto “Viabilidade do cultivo de ostras consorciado com o cultivo de camarões” que foi contemplado e posteriormente financiado pelo Banco do Brasil (FERREIRA e MAGALHÃES, 2004). O projeto teve duração entre os anos de 1985-1988 e previa o desenvolvimento do pacote tecnológico de produção da ostra nativa (*Crassostrea rhizophorae*) em consórcio com o cultivo de camarão, mas obteve resultados insatisfatórios.

Com isto, a solução veio pela importação da ostra japonesa, também conhecida como ostra do Pacífico (*Crassostrea gigas*). Os experimentos começaram em 1987 com exemplares trazidos de Cabo Frio, Rio de Janeiro. O local escolhido foi o bairro de Santo Antônio de Lisboa, em Florianópolis e os resultados foram surpreendentes pelo modo como esta espécie exótica se adaptou nessas águas (FREITAS *et al*, 1996; SUPLICY *et al*, 2003).

As sementes tiveram ótimo desempenho e em seis meses já havia ostras com oito centímetros. E após um ano estavam na sua maioria prontas para

comércio. A mortalidade havia sido baixa e os resultados animaram a equipe e os pescadores artesanais da região, que se engajaram significativamente na atividade. A partir daí formou-se o primeiro Condomínio de Maricultura do Brasil, que foi denominado Condomínio de Pesca e Maricultura Baía Norte (POLI, 1996)

O desenvolvimento da atividade teve como próximo passo a construção de um pequeno laboratório de produção de sementes de ostra num prédio conveniado com a Colônia de Pesca – Z-11 e a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). A construção levou cerca de 2 anos para, recebendo pequenas quantias de órgãos governamentais como auxílio. As instalações eram modestas e havia uma capacidade instalada de aproximadamente 1.000.000 de sementes, considerando a otimização total do laboratório (FERREIRA e MAGALHÃES, 2004).

Porém, somente em 1995 a situação da produção de sementes de ostras passou por melhorias significativas, contou com a entrada de um projeto da Universidade de Victoria, do Canadá, que por meio do CIDA/EIP deu suporte financeiro ao laboratório para transferência de tecnologia. Decidiu-se também pela construção de um laboratório maior a fim de atender ao crescente interesse dos maricultores (POLI, 1996).

Atualmente, Santa Catarina é o maior produtor nacional e o Brasil é o segundo maior produtor de moluscos bivalves da América Latina (EPAGRI, 2017), o que se deve ao desenvolvimento da atividade de aquicultura que passou por avanços consideráveis nos últimos anos. Foi nesse período em que anseios históricos e respostas dignas foram concedidas aos produtores de moluscos bivalves de todo país, quando da criação e estruturação de uma Secretaria de Aquicultura e Pesca (SEAP/PR), primeiro órgão desenvolvimentista do setor e que, devido a importância da causa, levou à posterior criação do Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), hoje anexado ao MAPA. Juntos, objetivavam fomentar e desenvolver políticas voltadas ao setor pesqueiro e da aquicultura (JACOMEL, 2014).

Com isso, algumas iniciativas visando o ordenamento efetivo da atividade e a comunicação entre órgãos governamentais que dividem a responsabilidade do usufruto dos recursos naturais em âmbito nacional, começaram a ser intensificadas. Entre elas, tomado o foco da produção de moluscos bivalves,

pode-se citar o desenvolvimento de políticas voltadas à construção de indicadores de produção que vêm para facilitar a padronização do processo produtivo de moluscos bivalves como foi o caso do Programa de Certificação das Ostras da Grande Florianópolis, lançado em 2007 pela SEAP/PR em parceria com a EPAGRI/SC; o Código de Conduta para o Desenvolvimento Sustentável e Responsável da Malacocultura Brasileira, lançado em 2009 pela SEAP/PR e o Programa Nacional de Controle Higiênico-sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB) lançado em 2012 pelo MPA, entre outros (JACOMEL, 2014).

3.1.2 Ostreicultura em Santa Catarina

O desenvolvimento da aquicultura e a introdução de ostras do Pacífico em Santa Catarina é algo recente como foi citado anteriormente, porém, o consumo e comércio de ostras nativas na ilha de Santa Catarina são tradições antigas. Berger (1990), citado por Alves (2003), em sua coletânea de relatos obtidos a partir de registros de viagens à Ilha de Santa Catarina nos séculos XVIII e XIX localizou duas referências às ostras nativas. O primeiro é datado de 1726, relatado pelo capitão do navio Speedwell, George Shelvocke:

“Pode-se subir os regatos salgados três ou quatro milhas (os quais eu mencionei anteriormente como estando próximos ao local onde pegamos nossa água potável). Lá cada pedra ou mesmo as raízes das árvores à beira da água, abrigam uma deliciosa espécie de ostras verdes”.

A segunda citação foi escrita pelo naturalista francês Antoine Joseph Pernetty, tripulante da expedição comandada por Louis Antoine Bougainville, em 1763:

“um espanhol nos trouxe um dia algumas centenas de ostras: eram muito maiores que as ostras brancas de Saintonge... Não se comem mais gordas nem melhores na França. Era um verdadeiro creme fresco, pelo gosto e brancura. Fizemos todo possível para contratar o espanhol e descobrimos, então, o lugar aonde as pegava, mas todos nossos cuidados foram inúteis, pois ele guardou seu segredo, como se fosse interesse do governador.”

O cultivo de ostras do Pacífico, tal como ele é hoje no Estado, teve início em 1983 através do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina. Teve grande incentivo e crescimento na década de 1990, com o objetivo de fornecer renda extra às famílias de pescadores artesanais, evitar o êxodo destes para outras atividades e proporcionar uma dieta nutritiva, rica em proteínas e vitaminas à população (FERREIRA, 2003).

As peculiaridades ambientais apresentadas no estado têm papel fundamental no crescimento e consolidação da atividade. Segundo FERREIRA (2003), o litoral catarinense é caracterizado pela presença de diversas baías e enseadas, com baixa profundidade de 3 a 8 metros e pequena declividade perto da costa. Nesses ambientes, a temperatura varia de 16 a 30 °C e a salinidade de 30 a 36‰. São ambientes que apresentam boa qualidade de água em termos de componentes bacterianos, permitindo baixos níveis de contaminação na carne dos moluscos e padrões de metais pesados dentro dos estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde.

A adaptação da ostra japonesa em águas catarinenses é impressionante. Países com grande tradição na produção e consumo de moluscos como França e Espanha registram problemas históricos na produção de desenvolvimento das ostras, que crescem mais lentamente se comparado ao Brasil. Enquanto na Europa uma ostra tarda aproximadamente 2 anos para atingir tamanho comercial, em Santa Catarina o mesmo produto leva de 6 a 7 meses de cultivo (EPAGRI, 2012). Esta vantagem produtiva pode tornar o país um grande fornecedor para o mercado europeu, atingidos os padrões requeridos à exportação (JACOMEL, 2014).

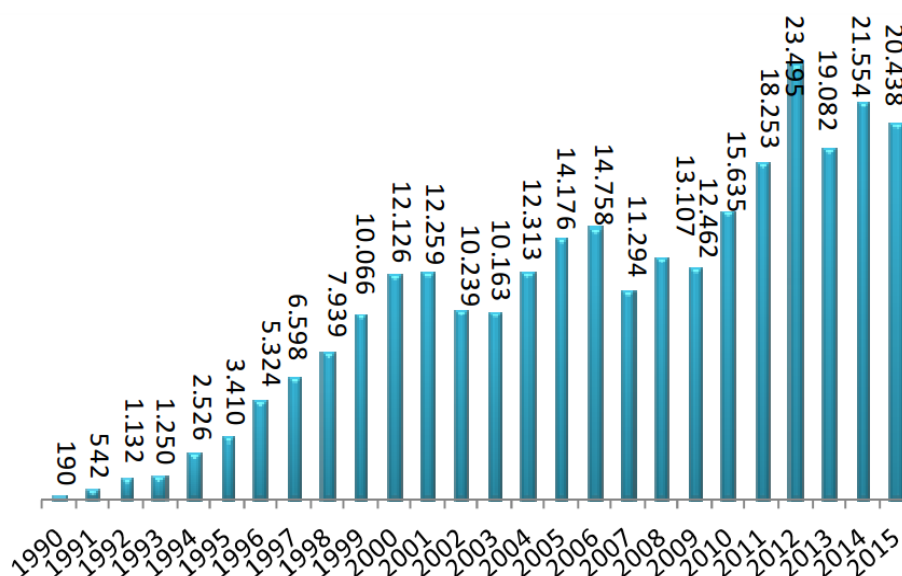
O cultivo de moluscos representa hoje a principal atividade em importância econômica para alguns municípios de Santa Catarina. Isso possibilitou a integração entre cultivo, turismo e gastronomia que culminou com a revitalização de algumas localidades e criou marcos de identificação como “Ostras de Florianópolis”, atualmente aprovada como selo de origem. (FERREIRA, 2003)

Segundo a última síntese da maricultura divulgada em 2016 pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S/A

(EPAGRI), órgão estadual responsável pela assistência técnica e desenvolvimento do setor, a produção de moluscos (mexilhões, ostras e vieiras) comercializados em 2015 pelo estado foi de 20.438 toneladas (t). Destas, 3.030,26t foram de ostras (*Crassostrea gigas*), 17.370,1t de mexilhões (*Perna perna*) e o restante de vieiras (*Nodpecton nodosus*).

A Figura 1 demonstra a evolução da produção de moluscos comercializados em Santa Catarina entre 1990 e 2015 (EPAGRI, 2016).

Figura 1



Fonte: EPAGRI (2016).

O volume da produção de moluscos em 2015 proporcionou uma movimentação financeira bruta estimada em R\$ 78.895.697,64 para o Estado, registrando um aumento de 12,57% em relação a 2014 (R\$ 70.084.887,20).

3.1.3 Ostras Cultivadas no Brasil e em Santa Catarina

As Ostras são moluscos bivalves e pertencem à família Ostreidae (RIOS, 1994). As espécies de ostras habitam regiões costeiras rasas, com ocorrência desde a faixa latitudinal de 64°N à 44°S (COSTA, 1985).

O gênero *Crassostrea* reúne as ostras de maior interesse econômico em função do seu valor alimentício e do uso da concha como matéria prima na fabricação de diversos produtos (COSTA, 1985).

Ostra do mangue é um nome popular dado a duas espécies nativas de ostras do gênero *Crassostrea* que ocorrem nas regiões estuarinas do Brasil, a *Crassostrea rhizophorae* e a *Crassostrea brasiliiana*, são encontradas em regiões estuarinas de baixa e média salinidade (COSTA, 1985).

A *Crassostrea rhizophorae* é uma espécie hermafrodita protândrica, de tamanho médio, que alcança tamanho de 100 mm, concha grossa e de forma variável, geralmente larga e de tonalidade clara a escura. A valva superior é plana e menor que a inferior, distribui-se do Caribe ao Atlântico sul americano até o Brasil (VILLARROEL *et al.*, 2004), é típica de zonas tropicais e ocorre principalmente fixada às raízes aéreas do mangue vermelho (*Rhizophora mangle*) ou sobre zonas interditaes e costões rochosos (NASCIMENTO, 1983).

A segunda espécie de ostra do mangue é a *Crassostrea brasiliiana*, que só foi identificada no Brasil nos anos de 1975 a 1978 (AKABOSHI e PEREIRA, 1981), tendo sido identificada, até então, como *Crassostrea rhizophorae*, em função da enorme semelhança morfológica entre elas e ainda por possuírem o mesmo habitat e fixar-se no mesmo substrato, porém a *C. brasiliiana* apresenta melhor desempenho de crescimento durante o cultivo (PEREIRA *et al.*, 2003).

As formas adultas de ambas as espécies são sésseis (organismos que não possuem capacidade de locomoção, vivem fixos, associados a um substrato) e apresentam grande plasticidade morfológica, dependendo do substrato onde estão fixadas (ABSHER, 1989), gerando grandes controvérsias para a identificação das espécies, tanto que a *C. rhizophorae* já foi considerada sinônima da *C. brasiliiana* (RIOS, 1994). Entretanto, trabalhos recentes baseados em polimorfismos moleculares confirmaram a existência e co-ocorrência das duas espécies no Brasil (VARELA *et al.*, 2007).

A ostra japonesa *Crassostrea gigas* proveniente do leste asiático, espécie eleita para este trabalho, ocorre predominantemente em regiões de alta salinidade e devido a sua rápida maturação sexual e grande potencial de desenvolvimento, vem sendo cultivada em vários países do mundo (AKABOSHI, 1979). Em função de seu melhor desempenho no cultivo, foi favorecida pelas políticas públicas de estímulos à produção e pesquisa, principalmente nos Estados de Santa Catarina e São Paulo (MANZONI, 2001).

O fomento por parte dos órgãos governamentais propiciou significativo melhoramento técnico do cultivo dessa espécie, atingindo tal nível de desenvolvimento no estado de Santa Catarina, que este se tornou o maior produtor nacional e referência na área de ostreicultura no Brasil (PROENÇA, 2001).

3.2 CONTAMINAÇÃO EM MOLUSCOS

Os moluscos bivalves possuem hábito alimentar filtrador, portanto se alimentam de partículas em suspensão na água. Suas duas valvas são mantidas ligeiramente abertas por onde entra a sua alimentação. O alimento provém de um fluxo de água, que passa através das cavidades do manto, pelas brânquias. Essas funcionam como um filtro e concentram partículas orgânicas, algas microscópicas e organismos planctônicos que servem como alimento para o animal (CORRÊA, 2006).

A capacidade filtradora de uma ostra pode chegar a 10 litros de água por hora e cerca de 200 litros por dia (WARD, 1996). Por essa característica, são considerados também reservatórios de inúmeros patógenos humanos, já que podem bioacumular primariamente bactérias, como as dos gêneros *Salmonella* e *Shigella*, vírus entéricos e protozoários, devido à contaminação fecal nos locais de cultivo (LEE; PANICKER; BEJ, 2003).

De acordo com LIANG *et al*, 2004, esses moluscos também podem concentrar contaminantes químicos como metais pesados, compostos organoclorados, hidrocarbonetos e elementos radioativos. Devido a essa

capacidade de bioacumular, os moluscos bivalves são importantes bioindicadores de alterações ambientais, assim como biomarcadores para o monitoramento de contaminação no ambiente aquático. O risco de doenças infecciosas oriundas do consumo de moluscos é um problema amplamente reconhecido há vários anos, tanto pela indústria de alimentos quanto pelas agências de saúde (CORRÊA, 2006).

Em países com grande consumo de frutos do mar, ou onde esses são tradicionalmente consumidos crus, uma grande porcentagem dos surtos está relacionada ao consumo dos moluscos. Na Austrália, 20% das intoxicações alimentares são relacionadas a esse consumo; na China, a ingestão de frutos do mar responde por 70% das intoxicações. Nos Estados Unidos, de todos os casos de doenças alimentares, o consumo de moluscos e de outros frutos do mar responde por 10-19% dos casos, sendo que 9% vão a óbito. Em quinze anos de estudos sobre surtos dessas doenças em Nova Iorque, os frutos do mar foram indicados como veículos de transmissão em 19% dos casos (CORRÊA, 2006).

Conforme LEE e YOUNGER (2002), os microrganismos que podem ser considerados um risco à saúde são bactérias patogênicas, tais como: *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* enteropatogênica (cepa O157), *Staphylococcus aureus*, *Yersinia* spp., *Vibrios* spp., *Bacillus cereus*, e *Clostridium perfringens*; protozoários patogênicos, tais como *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* e *Entamoeba histolytica*; e vírus, tais como os norovírus, rotavírus, vírus da hepatite A, dentre outros. Qualquer um desses microrganismos, se presente em águas estuarinas ou marinhas, como contaminação ou como residente natural, pode consequentemente contaminar os moluscos bivalves.

O hábito de consumir ostras cruas ou levemente cozidas pode contribuir para o surgimento de diversos casos de doenças transmitidas por alimentos (POTASMAN *et al.*, 2002; MENDES *et al.*, 2004). Assim sendo, é necessário avaliar os contaminantes microbiológicos tanto para a água como para os moluscos frescos.

3.2.1 Coliformes Termotolerantes

O grupo dos coliformes é característico dos organismos que crescem no trato gastrointestinal de animais de sangue quente, portanto sua presença no ambiente e nos organismos cultivados indica contaminação fecal (SILVA *et al.*, 2006; CODEX, 2008). O coliforme termotolerante é um dos patógenos amplamente utilizados no monitoramento da qualidade microbiológica da água em que se deseja constatar contaminação fecal recente ou de condições sanitárias insatisfatórias. Está relacionado com o risco potencial de contrair doenças infecciosas por meio de sua utilização para recreação e nos alimentos contaminados (SILVA *et al.*, 2006; TOURON *et al.*, 2007).

As doenças causadas por bactérias patogênicas associadas ao consumo de moluscos podem ser divididas em dois grupos, conforme a fonte de contaminação. Essas doenças podem ser causadas por bactérias naturalmente residentes no ecossistema aquático ou por bactérias presentes nesse ambiente como resultado da contaminação por fezes animais, no caso, os coliformes. Dentre as bactérias provenientes de contaminação fecal, os gêneros *Salmonella*, *Shigella* e *Escherichia* estão entre os principais veiculados por moluscos bivalves (FELDHUSEN, 2000).

O gênero *Salmonella* é o responsável pelos grandes surtos de gastroenterites de ocorrência mundial, apresentando uma dose infectiva a partir de 10^2 UFC/g de alimento, dependendo da linhagem. Países com uma alta produção de moluscos bivalves exigem, em suas regulamentações, a ausência de *Salmonella spp.* nos moluscos. O gênero *Shigella* apresenta uma dose infectiva baixa, que varia de 10 a 10^2 UFC/g de carne, com um longo período de sobrevivência no tecido dos moluscos (FELDHUSEN, 2000).

A *Escherichia coli*, pertence à família enterobactérias, é utilizada como organismo indicador de contaminação fecal, mas algumas linhagens podem ser patogênicas, como a linhagem 10157: H7, produtora de uma toxina que pode causar síndrome urêmica hemolítica e morte (FELDHUSEN, 2000).

Segundo VIEIRA (2004), a ingestão de bactérias como a *E. coli* pode causar pelo menos seis tipos de infecções intestinais que podem atacar desde crianças com idade inferior a 6 meses até adultos. Dentre os sintomas pode-se

citar: diarreia aguda, diarreia aquosa, diarreia severa, diarreia profusa, dores abdominais, vômitos, febre, náuseas, desidratação, sangue nas fezes, dor de cabeça, dores musculares.

Conforme FORCELINI *et al* (2009), essas infecções podem durar de 6 horas até 14 dias. Além disto, altos valores de *E. coli* podem ser indicadores de possíveis contaminações de outros microrganismos patogênicos humanos de veiculação hídrica.

Em países como os EUA, Chile e Brasil, o cultivo e a extração dos bivalves são controlados pela análise de qualidade da água (SILVA *et al.*, 2006). Diante da possibilidade de contaminação, o ideal é sempre optar por algum processo de purificação antes da comercialização e consumo. Além de doenças relacionadas com a presença de bactérias, vírus e protozoários, ainda há a possibilidade de doenças causadas por ingestão de moluscos bivalves contaminados por biotoxinas produzidas por esses microrganismos e também por microalgas, como dinoflagelados. Essas biotoxinas podem ser causadoras de diarreias (Diarrhetic Shellfish Poison - DSP) e paralisias (Paralytic Shellfish Poison – PSP), por exemplo, (YEN *et al.*, 2005).

Nos últimos anos foi detectado um aumento da poluição dos locais de cultivo de moluscos no Estado de Santa Catarina, com a detecção da presença de patógenos virais e bacterianos nos moluscos e nas águas de cultivo. Durante a realização deste trabalho houve interdição em algumas áreas de produção de moluscos em Santa Catarina devido à presença da toxina DSP nas águas de cultivo, isto é recorrente, nos últimos anos ocorreram várias interdições. Porém a produção desta toxina não está diretamente ligada a poluição, mas também, a alterações nos elementos ambientais que favoreçam a floração da microalga produtora desta toxina. Temperatura, oxigênio dissolvido, concentração de fitoplâncton e salinidade são exemplos destes elementos que podem ser influenciados pela época do ano e a pluviosidade (CIDASC, 2017).

3.2.2 Controle sanitário da produção de moluscos

A legislação referente aos níveis aceitáveis de contaminação em águas destinadas à criação de moluscos bivalves e para os próprios moluscos varia de

acordo com cada país. As normas vigentes, nos principais mercados produtores de moluscos no mundo, para a avaliação da qualidade sanitária dos frutos do mar cultivados para a comercialização são asseguradas pela análise físico-química das águas salinas, bem como pelo monitoramento dos níveis de coliformes que estejam presentes nas águas de cultivo e/ou dos próprios animais. Sendo assim, serão apresentadas a seguir as legislações nacional e internacional que norteiam esta produção.

3.2.3 Legislação Internacional

A legislação internacional para a produção e comercialização de moluscos bivalves é extremamente rigorosa, considerando os altos números de casos de doenças vinculados ao consumo de frutos do mar contaminados. Os países que produzem alimentos de origem marinha dispõem de legislação própria baseadas em regulamentações de grandes mercados como a União Europeia e os Estados Unidos (CORRÊA, 2006)

A Diretriz Europeia 91/492/EEC, de 15 de Julho de 1991 (EUROPEAN COMMUNITIES, 1991), estabelece as normas sanitárias que regem a produção e a colocação no mercado de moluscos bivalves vivos no mercado comum europeu. As áreas demarcadas para o cultivo são classificadas de acordo com a qualidade microbiológica da carne dos moluscos produzidos nestas áreas (CORRÊA, 2006)

As áreas classificadas como classe A, apresentam 90% das amostras de moluscos coletadas para análise com uma concentração de coliformes termotolerantes (CT) menor que 75 NMP/g (número mais provável/g de músculo) e uma concentração de *E. coli* menor que 57 NMP/g. Neste caso, os moluscos provenientes destas áreas podem ser introduzidos diretamente no mercado para consumo humano. As áreas nas quais os moluscos cultivados não excedem 6.000 NMP de CT por 100g e 4.600 NMP de *E. coli* por 100g, são classificadas como classe B. As áreas são classificadas como classe C se os moluscos apresentam um número entre 6.000 NMP e 60.000 NMP de CF por 100g de carne (CORRÊA, 2006).

Conforme esta classificação é avaliado qual o tratamento que será utilizado para a produção de moluscos a ser comercializada. A produção proveniente de áreas classe B devem ser colocadas no mercado somente após um tratamento em um centro de purificação ou após transposição para áreas de classe A por um tempo determinado pela regulamentação. Os moluscos cultivados em áreas de classe C devem, obrigatoriamente, passar por um período de, no mínimo, 2 meses de transposição, combinado com uma purificação (CORRÊA, 2006).

Para que a produção de moluscos possa ser considerada adequada para a comercialização, além dos parâmetros citados acima, não deve apresentar *Salmonella* spp. em 25g de carne e ter sido analisada quanto à presença de elementos radioativos e toxinas paralisantes e diarreicas (CORRÊA, 2006).

Segundo DOI *et al* (2016), existem outros padrões internacionais para determinar os limites de contaminações microbiológicas por meio dos valores de coliformes termotolerantes em tecidos moles das ostras cruas. A “*European Union Shellfish Quality Assurance Programme*” – EUSQAP (RODGERS, 2001) estabeleceu que estes valores não excedam 6.000 NMP 100 g⁻¹, enquanto que a *Codex Alimentarius* (CODEX, 2008) determinou como limite 230 NMP g⁻¹ de *Escherichia coli*, e a “*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*” (ICMSF, 1986) limitou em 16 NMP g⁻¹ de coliformes termotolerantes nos bivalves frescos e congelados.

No caso dos Estados Unidos, estes apresentam um programa de controle sanitário da produção de moluscos bivalves (National Shellfish Sanitation Program), o qual apresenta medidas regulamentadas a partir de acordos comerciais interestaduais, reconhecidas pelo FDA (NSSPFDA, 2003). Este programa tem por finalidade promover e valorizar a produção de moluscos no país, padronizando a regulamentação entre os Estados americanos (CORRÊA, 2006).

A legislação americana baseia-se na qualidade microbiológica das águas de cultivo. As áreas classificadas como aprovadas devem apresentar uma média geométrica, de no mínimo 2 amostras/ano, que não deve exceder 14 NMP CT/100mL. Nas áreas avaliadas como restritas, a média geométrica,

de no mínimo 5 amostras anuais, não deve exceder 88 NMP/100mL. Se houver presença de fontes pontuais e não pontuais de poluição, as áreas podem ser avaliadas como condicionalmente aprovadas e condicionalmente restritas, significando que estas áreas necessitam de um plano diretor para adequarem-se às normas exigidas para a produção de moluscos (CORRÊA, 2006).

A produção de moluscos provenientes de áreas classificadas como restritas, deve obrigatoriamente, como na legislação da União Europeia, passar por um sistema de purificação ou ser transportada para áreas de qualidade microbiológica superior, previamente à sua introdução no mercado (CORRÊA, 2006).

3.2.4 Legislação Nacional

Em 2005, através do decreto nº 5.564, de 19 de outubro (BRASIL, 2005), foi instituído o Comitê Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves, formado pelos: Ministério de Aquicultura e Pesca, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e Agência Nacional, com a finalidade de estabelecer e avaliar os requisitos necessários para garantia da qualidade higiênico-sanitária dos moluscos bivalves, visando à proteção da saúde da população e à criação de mecanismos seguros para o comércio nacional e internacional.

No ano de 2012 foi instaurado o Programa Nacional de Controle Higiênico Sanitário de Moluscos Bivalves que estabelece limites permissíveis de contaminação de origem fecal para os moluscos. Este determinou requisitos mínimos necessários para garantir a inocuidade e qualidade dos moluscos bivalves produzidos no Brasil destinados ao consumo humano, por meio da estimativa da densidade média dos coliformes termotolerantes (em NMP 100 g-1).

O critério utilizado considera os seguintes valores de coliformes termotolerantes: liberada para consumo <300 NMP 100 g-1; liberada sob condição (submeter ao processo de depuração) ≥300 e ≤6.000 NMP 100 g-1; e suspensão quando verificada >6.000 NMP 100 g-1.

O PNCMB, instituído oficialmente pela Instrução Normativa Interministerial nº 7 de 8 de maio de 2012, pode ser considerada a ação governamental mais recente em prol do desenvolvimento sustentável da atividade. Este programa tem por finalidade realizar o monitoramento dos parâmetros ambientais relativos à produção de moluscos bivalves no Brasil, garantindo a qualidade e procedência dos produtos da malacocultura brasileira amparada por normas federais.

Além do PNCMB, existem outras legislações que estabelecem regras para a comercialização de alimentos.

De acordo com a atual legislação, a resolução nº 12, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, não é realizada a avaliação de coliformes termotolerantes para moluscos “in natura”, exigindo unicamente a análise para *Salmonella spp.* e *Staphylococcus coagulase positiva* (ANVISA, 2017). No entanto valemo-nos do artigo 22, alínea d, da mesma Resolução (limites bacteriológicos para pratos que serão consumidos prontos) no qual os índices máximos aceitáveis para coliformes são de 10^2 /g.

Os níveis de coliformes termotolerantes e *E. coli* é exigência somente para a qualidade das águas de cultivo, conforme resolução no. 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2005). Nesta resolução são dados os parâmetros físico-químicos das águas de cultivo que devem ser monitorados, como carbono orgânico total, pH, oxigênio dissolvido e presença de elementos químicos como os metais pesados chumbo e mercúrio.

A comercialização de moluscos bivalves para fora das fronteiras estaduais necessita de um certificado de inspeção sanitária do Serviço de Inspeção Federal (SIF), cujo órgão emissor é o Serviço de Inspeção de Produto Animal, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A falta desta certificação e do conhecimento das origens do produto limita o comércio dos moluscos. Este registro, exigido para comercialização, funciona como um certificado de qualidade, informando a procedência dos produtos vendidos. Para consegui-lo o produtor precisa seguir uma série de determinações do Ministério da Agricultura, que vão desde medidas para construção das instalações, roupa utilizada por funcionários e uma

certificação da qualidade microbiológica da origem dos moluscos (RIGOTTO, 2003).

Para o cultivo de moluscos bivalves destinados à alimentação humana, a legislação preconiza que a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes na água de cultivo, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deve exceder 43 por 100 mL, e o percentil 90% não deve ultrapassar 88 coliformes termotolerantes por 100 mL. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de 5 amostras (CORREIA, 2006).

A *Escherichia coli* pode ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo próprio Conselho Nacional do Meio Ambiente. De acordo com Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Renováveis (IBAMA), a partir de 1995, o controle da qualidade das áreas de cultivo tornou-se responsabilidade dos próprios maricultores (SUPLICY, 1998).

3.3 MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO DE MOLUSCOS

Os métodos de processamento têm sido o principal fator na redução das doenças relacionadas ao consumo de moluscos. As técnicas mais efetivas incluem o cozimento, a transposição, a depuração e alta pressão hidrostática. Esses métodos são praticados em diversos países europeus, assim como Estados Unidos, Austrália e Canadá (CORREIA, 2016).

O cozimento, incluindo a pasteurização e o envasamento, aumenta a validade do produto, considerando que o tratamento com altas temperaturas é eficiente para inativar bactérias e vírus. A pasteurização é praticada em moluscos desconchados que serão vendidos congelados (RICHARDS, 2001), bem como em moluscos enlatados (HARRISON, 2005).

O tratamento com alta pressão hidrostática é um novo conceito para desinfecção de moluscos, o qual necessita ainda de estudos para determinar a eficiência. Este tipo de tratamento tem demonstrado ser efetivo na eliminação de espécies do gênero *Vibrio* e de alguns vírus como o Vírus da Hepatite A (LOPEZ-CABALLERO *et al*, 2000 KINGSLEY *et al*, 2002 citados

por CORREIA, 2016). A alta pressão, apesar de matar os moluscos, não altera o sabor (CORREIA, 2016).

Os métodos de purificação que são amplamente utilizados e que mantêm os moluscos bivalves vivos são a transposição e a depuração. Ambos os processos baseiam-se na capacidade de filtração dos moluscos, considerando que naturalmente serão eliminados os microrganismos de seus tecidos. De acordo com a legislação europeia e norte americana, citadas anteriormente, o processo de transposição de moluscos provenientes de áreas de cultivo com alguma restrição microbiológica deve, obrigatoriamente, ser realizado em áreas de cultivo consideradas aprovadas microbiologicamente (CORREIA, 2016).

Dependendo da qualidade da produção dos moluscos, esse processo deverá ser combinado com outro, denominado depuração. Durante o período de transposição, os moluscos naturalmente irão eliminar de seus tecidos os microrganismos contaminantes (CORREIA, 2016). No caso deste estudo, o método de purificação utilizado é a depuração.

3.3.1 Depuração de moluscos

Essa metodologia é bastante similar à transposição, no entanto é um processo monitorado, considerando que os moluscos não ficam diretamente no ambiente marinho, mas sim em tanques com água salina (CORRÊA, 2006).

A depuração de moluscos bivalves é praticada há aproximadamente 100 anos e iniciou-se com a associação de surtos de febre tifoide ao consumo de moluscos crus no Reino Unido (RODRICK; SCHNEIDER, 2003).

O princípio deste processo é a manutenção dos moluscos, por um determinado tempo, em contato com água limpa sob condições controladas, a fim de que, através do processo de filtração (bombeamento da água pelo molusco), os patógenos presentes nos tecidos sejam excretados nas fezes e pseudofezes (RICHARDS, 1988; CORREIA, 2016).

Há poucos trabalhos relacionados a pesquisas sobre a dinâmica de depuração de microrganismos por moluscos bivalves, portanto, maiores estudos nessa área são fundamentais.

Uma depuração bem sucedida depende do conhecimento de que parâmetros ambientais associados à qualidade da água utilizada podem interferir no resultado final. Apesar de a depuração ser um processo natural para os moluscos bivalves, podem-se melhorar os resultados se o ambiente ao qual os moluscos são expostos (tanques de depuração) for trabalhado de forma a minimizar as variações ambientais (RICHARDS, 1991).

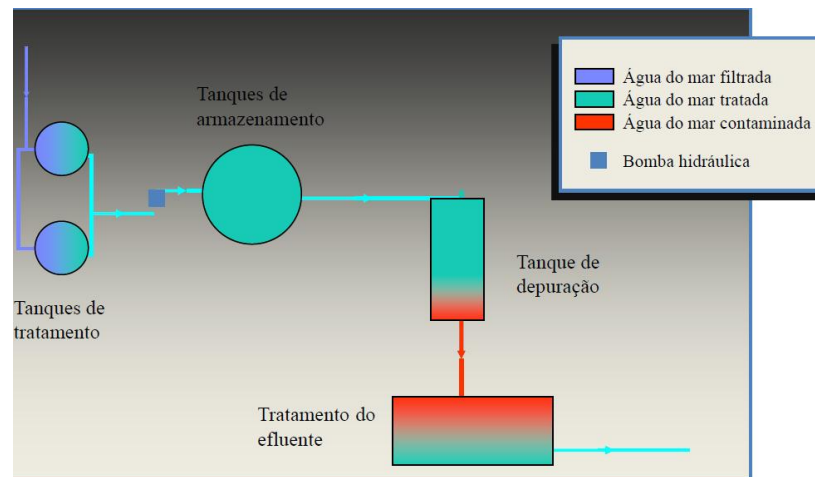
A temperatura da água, a salinidade, o conteúdo de oxigênio dissolvido, a turbidez e a concentração de fitoplâncton podem afetar o processo de eliminação de patógenos. Esses fatores devem ser cuidadosamente controlados, pois a atividade fisiológica, a taxa de filtração e as respostas comportamentais dos moluscos podem variar em resposta ao ambiente de depuração (RODRICK; SCHNEIDER, 2003).

Existem basicamente três tipos de sistemas de depuração: os tanques de depuração que funcionam com água limpa e fresca injetada continuamente através de uma bomba (sistema de fluxo contínuo), os tanques onde a água pode ser substituída em intervalos determinados (Batch-process) ou ainda tanques com água recirculada (sistema fechado de circulação) (RICHARDS, 2003).

O fluxo contínuo é o mais econômico caso os sistemas de depuração estejam localizados em locais próximos a fonte de água limpa, mas apesar disso, o uso de um tratamento de desinfecção prévio da água, como ultravioleta e cloração, melhora a eficiência do processo (CORRÊA, 2006).

O sistema de depuração utilizado na Fazenda Marinha Paraíso das Ostras é o sistema de fluxo contínuo (Figura 2). Consiste em um tanque de concreto, uma moto bomba, para o bombeamento da água do mar já armazenada em um tanque, um filtro UV para a esterilização da água, e um chiller para o resfriamento da água. A água entra no tanque por um cano repleto de pequenos furos, fazendo uma espécie de chuveiro, promovendo também a aeração no tanque.

Figura 2: Esquema do sistema de abastecimento de uma planta depuradora de fluxo contínuo similar ao utilizado na pesquisa.



4. METODOLOGIA

A análise de coliformes termotolerantes foi realizada de acordo com a metodologia preconizada por Silva *et al* (2010).

As amostras foram coletadas dia 26 de setembro de 2017 as 7 horas da manhã na Fazenda Marinha Paraíso das Ostras, localizada no extremo sul da Ilha de Florianópolis, mais precisamente na localidade denominada Caieira da Barra dos Sul.

As ostras depuradas estavam há 12 horas no depurador e as não depuradas foram recolhidas na hora indicada anteriormente. As amostras fazem parte do mesmo lote de sementes adquiridas junto ao laboratório da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) localizado na Barra da Lagoa e tinham 7 meses de idade.

As amostras foram acondicionadas e encaminhadas para o laboratório em caixas de isopor com gelo. As análises aconteceram em menos de 4 horas após a coleta, no Laboratório de Microbiologia de Alimentos 2 do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina.

As ostras foram higienizadas superficialmente em água corrente e abertas em condições assépticas, formando 10 amostras laboratoriais para cada tratamento, com a carne e o líquido intervalar conforme recomendado pelo ICMSF (2015). Cada amostra era composta por 10 animais, portanto foram utilizados 100 animais terminados na depuradora (10 amostras) e 100 animais terminados em condições naturais (10 amostras). O peso das amostras laboratoriais está na Tabela 1.

Tabela 1 – Peso das amostras laboratoriais de ostras depuradas e não depuradas

Amostras Depuradas	Peso (g)	Amostras não depuradas	Peso (g)
D1	257,5	ND1	237,1
D2	238,2	ND2	286,2
D3	302,4	ND3	320,1
D4	307,1	ND4	261,1
D5	289,3	ND5	249,7
D6	278,8	ND6	273,9
D7	302,6	ND7	258,9
D8	274,0	ND8	266,2
D9	262,1	ND9	287,0
D10	249,3	ND10	309,5

Foram pesadas 25 g de cada amostra laboratorial, adicionadas de 225 ml de água peptonada 0,1% e homogeneizadas por aproximadamente 60 segundos no Bag Mixer, preparando a diluição 10^{-1} e realizada a diluição seriada até 10^{-3} por transferência de uma alíquota de 1 ml da amostra para um tubo de ensaio contendo 9 ml água peptonada 0,1%.

A prova presuntiva foi realizada por inoculação de 1 ml em cada tubo para uma série de três tubos com 10 ml de caldo LST com tubo de Durham e incubação a 35-37°C/48 horas. Todos os tubos de LST com turvação e produção de gás foram submetidos a prova confirmatória. A prova confirmatória foi realizada pela transferência de 100 µl dos tubos positivos de LST para tubos com caldo EC com tubo de Durham e incubados em banho-maria a 44,5°C (água, moluscos bivalves, peixes e derivados de peixes) por 48 horas e observado o crescimento com produção de gás.

Paralelamente às amostras analisadas, o teste de controle positivo foi realizado com a cepa de *E. coli* ATTC 25922.

A enumeração dos coliformes termotolerantes foi realizada por meio da comparação dos números de tubos positivos com a tabela de NMP adequada às diluições inoculadas e os resultados expressos em NMP/g.

Referente às análises estatísticas entre os tratamentos, foi realizado Teste de Tukey. O SAS system foi o programa utilizado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As amostras analisadas apresentaram baixa contaminação por coliformes termotolerantes, como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados da enumeração de coliformes termotolerantes em amostras de ostras depuradas e não depuradas

Amostras Depuradas	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	Amostras não depuradas	Coliformes termotolerantes (NMP/g)
D1	9,2	ND1	<3
D2	<3	ND2	15
D3	<3	ND3	<3
D4	7,4	ND4	<3
D5	<3	ND5	9,2
D6	<3	ND6	<3
D7	9,2	ND7	9,2
D8	3,6	ND8	9,2
D9	<3	ND9	<3
D10	<3	ND10	<3

D: Depuradas

ND: Não depuradas

Os testes estatísticos revelaram que o peso médio das ostras não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$), independente do modo de terminação, depuradas ou não.

Referente ao Número Mais provável de Coliformes Termotolerantes verificou-se, também, que não houve diferença de significância estatística entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3: Resultado das comparações entre as médias.

Tratamento	Número amostras	Média peso (g)	Média NMP/g de coliformes
Depuradas	10	276, 13 A	4, 68 a
Não Depuradas	10	274, 97 A	6, 06 a

Médias indicadas com letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre si em função do peso pelo teste de Tukey. Médias indicadas com letras minúsculas não diferem estatisticamente entre si em função da contagem de coliformes pelo teste de Tukey.

A contagem de coliformes termotolerantes no tecido da ostra variou de valores inferiores a 3 a 15 NMP/g.

Os padrões estabelecidos pela ANVISA (Resolução 12) não regulam bivalves *in natura* que serão consumidos crus. Porém, considerando-se o artigo 22, alínea d, da mesma Resolução, que especifica limites bacteriológicos para pratos que serão consumidos prontos, o índice máximo aceitável estipulado é de 10^2 /g para coliformes termotolerantes. Comparando com os resultados da pesquisa, nenhuma das vinte amostras estaria fora dos padrões.

Machado *et al.* (2001) sugerem que a determinação de Coliformes Totais em tecidos moles e líquido intervalvar, para avaliar a qualidade dos moluscos, produzidos com fins comerciais, apresenta maiores possibilidades como padrão de normatização no cultivo do que a análise da água das áreas produtivas.

Análises laboratoriais realizadas pela CIDASC em agosto de 2017 em tecidos de mexilhões *Perna perna* nas águas de cultivo da fazenda, constataram valores inferiores a 20 NMP de coliformes, similares aos encontrados neste estudo. Sanchez *et al.* (1991) encontraram em ostras coletadas no litoral do Estado de São Paulo níveis de Coliformes Totais que variaram de 7,0 a $3,0 \times 10^5$ NMP/g. Bem maiores portanto, que os encontrados na presente pesquisa e fora dos padrões nacionais e internacionais.

RAMOS *et al.* (2010) analisaram amostras de água e ostras quanto à quantidade de coliformes em alguns pontos da Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, constatando que houve diferença significativa entre os pontos de coleta, com valores mais elevados em uma região que não permite uma circulação eficiente das águas, o que dificulta a diluição dos dejetos (quando

ocorrem os despejos). O nível dos coliformes pode ser afetado por fatores como as correntes, os ventos e a chuva que ocorre na vizinhança do estuário (MIQUELANTE & KOLM, 2011; DOI *et al.*, 2014).

De acordo com a Diretriz Europeia 91/492/EEC, de 15 de Julho de 1991 (EUROPEAN COMMUNITIES, 1991), a área de cultivo se enquadraria como Classe A, pois, apresenta 90% das amostras de moluscos coletadas para análise com uma concentração de coliformes menor que 75NMP/g (número mais provável/ 100 g de carne). Neste caso, os moluscos provenientes desta área podem ser introduzidos diretamente no mercado para consumo humano. Da mesma forma acontece aos padrões internacionais expostos por DOI *et al* em 2016: *European Union Shellfish Quality Assurance Programme*, *Codex Alimentarius* e a *International Commission on Microbiological Specifications*, todas as amostras apresentam valores abaixo dos limites estabelecidos.

Quanto à eficiência do processo de depuração na Fazenda Marinha pesquisada, os resultados não permitem uma conclusão segura em relação a eficiência do processo de depuração, pois, os valores do NMP de coliformes foram muito baixos em ambos os tratamentos não apresentando diferença significativa. Isto pode ser resultado da boa qualidade de água na ocasião das coletas onde o nível de contaminação por coliformes esteve muito baixo. Segundo ZAMARIOLI *et al.*, (1997), a microbiota da carne das ostras está diretamente relacionada ao ambiente do qual ela se origina.

Mesmo se houvesse diferença significativa do NMP de coliformes entre os tratamentos é difícil avaliar a eficácia da depuradora. Tal como descrito por vários estudos, a ausência desta bactéria nem sempre está associada à ausência de outras bactérias, como *Salmonella* spp. ou *Vibrio* spp. (GIRONES *et al.*, 2010; CARRARO *et al.*, 2015) o que torna também ineficaz a avaliação da eficácia do processo de depuração (CROCI *et al.*, 2002).

Apesar de não ser possível a avaliação da eficiência da depuração neste trabalho, é pertinente lembrar que a unidade depuradora possui os equipamentos necessários para o cuidadoso controle de fatores como a temperatura da água, a salinidade, o conteúdo de oxigênio dissolvido, a turbidez e a concentração de fitoplâncton. O conhecimento sobre estes fatores pode melhorar a eficiência do processo de depuração (CORREIA, 2016).

O tempo de depuração utilizado na fazenda é de 12 horas, este período encontra respaldo na literatura. CORREIA (2016) em seu trabalho sobre otimização no processo de depuração de moluscos bivalves, de um modo geral, observou uma tendência positiva para a eliminação de microrganismos patogênicos já nas 12h de depuração, sugerindo que não é necessário o prolongamento deste processo por 24h ou 48h, o que pode contribuir para uma maior perda de peso e diminuição do valor nutricional e organolético dos moluscos depurados. Não foi observado, na presente pesquisa diferença de peso entre os tratamentos, as ostras que passaram por depuração não alteraram o peso.

Pesquisas sobre depuração de ostras e mexilhões indicaram que ocorre uma eliminação diferencial de espécies de bactérias, em relação ao tempo, e que a *E. coli* é a primeira a ser eliminada quando comparada a patógenos como *Vibrios spp.* e *Salmonella spp.* (MURPHREE, TAMPLIN, 1991; CROCI *et al.* 2002; MARINO *et al.*, 2005 citados por CORRÊA, 2006).

De acordo com DORÉ e LEES (1995), em uma depuração, visando a eliminação de *E. coli* e bacteriófago F+ (sugerido como indicador de contaminação viral no ambiente), de ostras (*C.gigas*) e mexilhões (*M. edulis*), foram necessárias 6,5h para eliminar 90% das bactérias e cerca de 45h para a eliminação de 90% dos bacteriófagos.

A rápida redução de *E. coli* na maioria dos processos de depuração dentro dos valores legislados confirma esta opção de curtos períodos de depuração (CROCI *et al.*, 2002, citados por CORRÊA, 2006). No entanto, a de se considerar a possível permanência de microrganismos patogênicos (CORREIA, 2016).

Resultados de pesquisas realizadas em Santa Catarina, com agentes prevalentes localmente indicam que a depuração em ambiente controlado pode ser uma alternativa para redução, especialmente dos seguintes microrganismos: *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus*, adenovírus humano e vírus da hepatite A (EPAGRI, 2014).

Embora os resultados apresentem baixa contaminação por coliformes termotolerantes o monitoramento das águas deve ser constante, pois, as mudanças na qualidade da água podem acontecer bruscamente seja por despejos de resíduos humanos pontuais ou por mudanças climáticas que

interferem na proliferação de microrganismos. Como foi mencionado antes, o nível dos coliformes pode ser afetado por fatores como as correntes, os ventos e a chuva que ocorre no entorno do cultivo.

A malacocultura em Santa Catarina cresceu de forma acelerada nos últimos anos trazendo perspectiva de desenvolvimento para as comunidades envolvidas. Portanto, é de grande importância que as áreas de cultivo e a produção de moluscos apresentem qualidade microbiológica adequada às premissas da segurança alimentar, à legislação vigente no país e às normas internacionais para que a atividade continue a crescer e ultrapasse as fronteiras nacionais (JACOMEL, 2014).

Para que a exportação de moluscos bivalves possa competir por espaço no mercado internacional, é necessário que esta esteja de acordo com a legislação dos países concorrentes. Os principais mercados de moluscos bivalves são a União Europeia e os Estados Unidos, e nestes mercados, a aplicação da depuração de moluscos garante um produto final com alto valor comercial e com garantia de boas condições sanitárias (JACOMEL, 2014).

A Fazenda Marinha está na vanguarda da produção em Santa Catarina e no Brasil. Além de sua área apresentar ótima qualidade de água, seu processo produtivo respeita as boas práticas de produção no que diz respeito ao controle sanitário. A depuração é uma segurança a mais para quem quer adquirir moluscos frescos com poucas chances de contaminação microbiológica. Seus produtos são enviados para todo o Brasil, pois a empresa possui o S.I.F. (Serviço de Inspeção Federal). Este ano Florianópolis oficializou o serviço de inspeção municipal (S.I.M) e o referido empreendimento foi o primeiro a receber a certificação.

.

6. CONCLUSÕES

Os resultados da presente pesquisa não apresentam diferenças significativas na contagem de coliformes termotolerantes entre ostras depuradas e não depuradas na Fazenda Marinha Paraíso das Ostras devido a baixa contaminação das últimas.

Estudos brasileiros sobre depuração de moluscos são raros, porém tornam-se necessários, considerando a necessidade de maior conhecimento nesta área com a finalidade de produzir conhecimento nacional para essa prática e também para que os moluscos produzidos e consumidos sejam promotores de saúde e não o contrário, novos trabalhos ainda devem ser realizados para complementar os resultados já obtidos.

7. REFERÊNCIAS

ABSHER, T. M. **Populações naturais de ostras do gênero *Crassostrea* do litoral do Paraná – desenvolvimento larval, recrutamento e crescimento**. Tese de PhD. Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1989.

ALVES, Rafael. **Estudo Taxonômico de ostras do Gênero *Crassostrea* Sacco, 1987, da região da grande Florianópolis-Brasil**. Dissertação apresentada no curso de Pós Graduação em Aquicultura do centro de ciências agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/88128/212468.pdf?sequence=1>> Acesso em 24 de maio de 2017.

AKABOSHI, S., **Notas sobre o comportamento da ostra japonesa *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1785) no litoral do Estado de São Paulo, Brasil**. Bol. Inst. Pesca, 6, p. 93-104. 1979

AKABOSHI, S.; PEREIRA, O.M. **Ostreicultura na região lagunar de Cananéia, São Paulo, Brasil**. 1. Captação de larvas de ostra *Crassostrea brasiliiana*, em ambiente natural. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, v.18, p.87-104, 1981.

ANVISA (Agência Nacional da Vigilância Sanitária). **Resolução nº 12**. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffd6-3767-4527-bfac-740a0400829b> Acesso em 10 de out de 2017.

BERNARDI, Célia Regina Monte; Nunes, Fabricio Flores; RAMOS, Ana Paula Dore; SOUZA, Doris Sobral Marques. ***Evaluation of tropical water source and mollusks in southern Brazil using microbiological, biochemical and chemical parameters*** (PDF Download Available). Disponível em <<https://www.researchgate.net/signup.SignUp.html>> Acesso em 30 de set de 2017.

BRASIL – **Portal Brasil**. 2013. Disponível em <www.brasil.gov.br>. Acesso em 25 de set de 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). (2005) **Resolução nº 357, do dia 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p. 208-303.

CARRARO, V., SANNA, C., BRANDAS, V., e SANNA, A. (2015). ***Hygiene and health risks associated with the consumption of edible lamellibranch molluscs***. *International Journal of Food Microbiology*, 201, páginas 52-57. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.014.

CIDASC – **Companhia Integrada do Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina.** 2017. Disponível em <<http://www.cidasc.sc.gov.br/defesasanimariaanimal/monitoramento-de-algas-nocivas/>> Acessado em 14 de setembro de 2017.

CODEX ALIMENTARIUS (CODEX). (2008) **Standard for live and raw bivalve molluscus.** Codex Standard 292-2008, p. 1-7.

CONAMA (2005). Resolução Nº 357 Disponível em <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>> Acesso em 22 de ago de 2017.

CORREIA, Adriana de Abreu. **Estudo sobre a dinâmica de depuração de ostras de cultivo (*Crassostrea gigas*) artificialmente contaminadas com *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia na Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia. UFSC, 2006.

CORREIA, Maria Helena Oliveira Casemiro. **Otimização do processo de depuração de moluscos bivalves.** Universidade de Aveiro 2016 Departamento de Biologia. Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Marinha. Universidade de Aveiro- Portugal, 2016. Disponível em<https://ria.ua.pt/bitstream/10773/17150/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o_Maria_Helena_Correia.pdf> acesso em 23 de set 2017.

COSTA, P.F. **Biologia e tecnologia para o cultivo.** In: Brasil. Ministérios da Marinha. Instituto Nacional de Estudos do Mar. Manual de Maricultura. Rio de Janeiro, Cap.VIII, parte B. Information Division. 1985.

CROCI, L., SUFFREDINI, E., COZZI, L., e TOTI, L. (2002). **Effects of depuration of molluscs experimentally contaminated with *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* O1 and *Vibrio parahaemolyticus*.** *Journal of Applied Microbiology*, 92, páginas 460-465. doi: 10.1046/j.1365-2672.2002.01548.x.

DOI, Sonia Assami; OLIVEIRA, Julia Fernandes Cardoso de; BARBIERI Edison 2016. **Determinação de coliformes na água e no tecido mole das ostras extraídas em Cananéia, São Paulo, Brasil..** Artigo Técnico.

DOI, S.A.; BARBIERI, E.; MARQUES, H.L.A. (2014) **Densidade colimétrica das áreas de extrativismo de ostras em relação aos fatores ambientais em Cananéia (SP).** Engenharia Sanitária e Ambiental, São Paulo, v. 19, p. 165-171.

DORE, I. **Shellfish:** a guide to oysters, mussels, scallops, clams, and similar products for the commercial user. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 240 p.

DORÉ, W.J., LEES, D. N., Behavior of *Escherichia coli* and Male-Specific Bacteriophage in Environmental Contaminated Bivalve Molluscs before and after Depuration. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 8, p. 2830-2834, 1995.

EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina). **Cultivo de Moluscos**. Disponível em: <http://www.epagri.sc.gov.br/?page_id=657> Acesso em 23 de outubro de 2017.

EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina). **Moluscos Bivalves, Medidas de controle microbiológico para atender às exigências da União Europeia 2014**, Disponível em: <http://www.epagri.sc.gov.br/wpcontent/uploads/2014/05/Moluscos_bivalves_abril-2014.pdf> Acesso em 20 de outubro de 2017.

EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina). **Síntese Informativa da Maricultura 2015**. Disponível em: <<http://www.epagri.sc.gov.br/wp-content/uploads/2013/08/Sintese-informativa-da-maricultura-2015.pdf>> Acesso em 20 de maio de 2017.

EUROPEAN COMMUNITIES. Council Directive of 15th of July 1991 laying down the health conditions for the production and placing on the market of live bivalve mollusks (91/492/EEC). **Off. J. Eur. Communities**, v. L268, p. 1-14, 1991.

FELDHUSEN, F. ***The role of seaffod in bacterial foodborne diseases***. **Microbes and Infection**, Paris, v.2, p.1651-1660, 2000.

FAO. 2016. **El estado mundial de la pesca y acuicultura 2016**. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação, Roma, Itália, 2016. Disponível em <<http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf>> Acesso em 26 de ago de 2017.

FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura). **Novo relatório da FAO aponta que produção da pesca e aquicultura no Brasil deve crescer mais de 100% até 2025**. Disponível em <<http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/423722/>> Acesso em 20 de maio de 2017.

FERREIRA, J. F. & MAGALHÃES, A. R. M. **Cultivo de mexilhões**. In: orgs: POLI, C. R.; POLI, A. T. B.; Andreatta, E.; Beltrame, E. *Aqüicultura: experiências brasileiras*. Florianópolis, Multifatorial editora, p. 221-250. 2004.

FERREIRA, G.B.; **Proposta de um Sistema de Gestão Sustentável para o Cultivo da Ostra do Pacífico (*Crassostrea gigas*)**: Estudo de Caso de um Cultivo no Ribeirão da Ilha – Florianópolis – Disponível em: <<http://sites.unifebe.edu.br/~congressoits2010/artigos/artigos/029>> Acesso em 12 de junho de 2017.

FORCELINI, Helenita Catharina Dalla-Lana; KOLM, Hedda Elisabeth; ABSHER, Theresinha Monteiro ABSHER. **COLIFORMES TOTAIS E *Escherichia coli* EM OSTRAS COMERCIALIZADAS NOMERCADO MUNICIPAL DE GUARATUBA, PARANÁ – BRASIL**. Disponível em <http://www.pesca.sp.gov.br/35_2_275-283.pdf> Acesso em 23 de set de 2017.

FURTADO, Ângela Aparecida Lemos. **Pescados** In: AGEITEC (Agência Embrapa de informação tecnológica). Disponível em <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/>> Acesso em 25 de set de 2017.

FREITAS, M.; FERREIRA, J.F.; e MAGALHAES, A.R.M. **Cultivated marine mussel growth in southern Brazil**. Journal of Medical & Applied Malacology. v.8 p. 155-156. 1996.

GIRONES, R., FERRÚS, M. A., ALONSO, J. L., RODRIGUES-MANZANO, J., CALGUA, B., CORRÊA, A. A., ..., BOFILLI-MAS, S. (2010). **Molecular detection of pathogens in water - The pros and cons of molecular techniques**. Water Research, 44(15), páginas 4325-4339. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135410004173>.

HARRISON, S. **Export of pasteurized mussels to the U.S. Business** Chile, 10 de Junho de 2005. Disponível em <<http://www.businesschile.cl/portada.php?w=old&id=152&lan=en>>.

I.B.G.E. **Produção Pecuária 2015**. Volume 43, 2015, Brasil. Disponível em< https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf> Acesso em 15 de set de 2017.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS; FRANCO, Bernadette D. G. de Melo. **Microrganismos em alimentos 8**: utilização de dados para avaliação do controle de processo e aceitação de produto. São Paulo: Blucher, 2015.

JACOMEL, B. **Produção sustentável e controlada de ostras: ações em Santa Catarina rumo aos padrões internacionais de comercialização**. Dissertação-Departamento de Engenharia de Produção e Sistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2014. Disponível em< <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/129600/328635.pdf;sequence=1>> Acesso em 20 de ago de 2017.

LEE, J.R.; YOUNGER, A.D. **Developing microbiological risk assessment for shellfish purification**. International Biodeterioration & Biodegradation, v. 50, p.177-183, 2002.

LEE, C.Y.; PANICKER G.; BEJ, A.K. **Detection of pathogenic bacteria in shellfish using multiplex PCR followed by CovaLink™ NH microwell plate sandwich hybridization**. Journal of Microbiological Methods. v.53, p.199-209, 2003.

LIANG et al. **Evaluation of mollusk as biomonitors to investigate heavy metal contamination along the Chinese Bohai Sea**. Science of Total Environment, v. 324, p. 105-113, 2004.

MACHADO, I. C.; Paula, A. M. R.; BUZZO, A.; JAKABI, M.; RISTORI, C. & SAKUMAa, H. **Estudo da ocorrência de contaminação orgânica no estuário de Cananéia, como subsídio para a extração, manejo e cultivo da ostra do mangue (*Crassostrea brasiliana*)**. 2. Análise da ostra (tecidos moles e líquido intervalvar). Rev. Hig. Alim., São Paulo, v. 15, n. 83, p. 44-48, 2001.

MANZONI, G. C. **Ostras: Aspectos bioecológicos e técnicas de cultivo**. 1. ed. ITAJAI: UNIVALI, 1, 30 p. 2001.

MENDES, E.S.; MENDES, P.P.; LOPES, C.A.M.; COELHO, M.I.S.; SOUZA, J.C.R.; CRUZ, M.C.S.; ASSIS, A.S. (2004) **Sazonalidade dos microrganismos em ostras consumidas na grande Recife, PE**. *Revista Higiene Alimentar*, v. 18, n. 116, p. 79-87.

MIQUELANTE, F.A. & KOLM, H.E. (2011) **Indicadores microbiológicos de poluição fecal na desembocadura da Gamboa Olho d'Água, Paraná: subsídio para o monitoramento da balneabilidade do Brasil**. *UEPG Biology Health Science*, Ponta Grossa, v. 17, n. 1, p. 21-35

MIRANDA, J. M. (2013). Diário da República, 2ª série – Nº 227 – **Despacho nº 15264/2013**. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Disponível em <https://www.ipma.pt/export/sites/ipma/bin/docs/institucionais/desp.15264.2013_zonas.pdf> Acesso em 23 de set de 2017.

MONTIBELLER, Gilberto. **Maricultura Meio Ambiente: A Experiência a Escócia como alerta para o Brasil**. Disponível em <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/economia/article/viewFile/6080/5645>> Acesso em 23 de set de 2017.

MURPHREE, R. L., TAMPLIN, M. L., **Uptake and Retention of *Vibrio cholerae* O1 in the Eastern Oyster, *Crassostrea virginica***. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n. 10, p. 3656-3660., 1991.

NASCIMENTO, I. A. Cultivo de ostras no Brasil: problemas e perspectivas. *Ciência e Cultura*, 35, p. 871-876. 1983.

NUNES, M. L., BATISTA, I., BANDARRA, N. M. (2008). **Produtos da pesca: valor nutricional e importância para a saúde e bem-estar dos consumidores**. Publicações avulsas do IPIMAR, Lisboa.

PEREIRA, O. M.; HENRIQUES, M. B.; MACHADO, I. C. **Estimativa da curva de crescimento da ostra *Crassostrea brasiliana* em bosques de mangue e proposta para sua extração ordenada no estuário de Cananéia, SP, Brasil**. *Boletim do Instituto de Pesca*, 29(1), p. 19- 28, 2003.

POLI, C.R. **Análise dos Produtores de Molusco e Santa Catarina- UFSC**. Convênio University of Victoria/Canada p. 29. 1993.

POLI, C. R. **Cultivo de ostras do pacífico (*C. gigas*)**. In: *Aquicultura. Experiências Brasileiras*. Florianópolis: Multitarefa, p. 251-266. 2004.

POLI, C.R. **Cultivo de *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795) no Sul do Brasil**. Trabalho de defesa de Exame para Prof. Titular, UFSC. Departamento de Aqüicultura, Centro de Ciências Agrárias, 144p. 1996.

POTASMAN, I.; PAZ, A.; ODEH, M. (2002) ***Infectious outbreaks associated with bivalve shellfish consumption: a worldwide perspective***. *Clinical Infectious Diseases*, v. 35, n. 8, p. 921-928.

PROENÇA, C.E.M. **Plataforma do agronegócio da malacocultura**. CNPQ/DPA/MAPA, Brasília, 2001.

RAMOS, R.J.; PEREIRA, M.A.; MIOTTO, L.A.; FARIA, L.F.B.; SILVEIRA JUNIOR, N.; VIEIRA, C.R.W. (2010) **Microrganismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária em ostras (*Crassostrea gigas*) e águas salinas** de fazendas marinhas localizadas na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 69, n. 1, p. 29-37.

REES, G., POND, K., KAY, D., e BARTRAM, J. (2013). ***Safe Management of Shellfish and Harvest Waters***. doi: 10.2166/9781780405797.

RICHARDS, G. P. Shellfish Depuration. In: ***Microbiology of Marine Food Products***. New York, 1991. p. 395-428.

RICHARDS, G.P.; ***Microbial Purification of Shellfish***: a review of depurations and relaying. *Journal of Food Protection*, v. 51, p.218-251, 1988.

RICHARDS, G. P.; ***The Evolution of molluscan shellfish safety***. 2003 In: *Molluscan Shellfish Safety* (Villalba, A. Reguera, B., Lopez-Romalde, J. L.; Beiras, R. eds) pp. 221--322. Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commision of UNESCO, Santiago de Compostela, 2003.

RIGOTTO, C. **Proposta da Utilização de Adenovírus como Indicadores de Contaminação Viral Humana em Ostras de Cultivo**. 2003. 117 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RIOS, E. **Seashells of Brazil**. 2 ed. Rio Grande: Editora da Furg, 1994. 368 p.

RODRICK, G.E., SCHNEIDER, K. R., ***Molluscan Shellfish Depuration***. In: VILLABOA, A., REGUERA, B., ROMALDE, J., REIS, R. (ed). *Proceedings of the 4th International Conference on Molluscan Shellfish Safety*, Santiago de Compostela, Spain, 2002, june 4-8, Consellería de Pesca y Asuntos Maritimos de Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commision of UNESCO, 2003.

SANCHEZ, P. S.; STOPPE, N. C.; ZANOLI, M. I.; MARTINEZ, S.C. G. L.; OSTINI, S.; SEGAMARCHI, A. L. & ALMEIDA, G. L. **Caracterização da qualidade microbiológica de águas marinhas e moluscos bivalves do litoral**

norte do estado de São Paulo, p. 430-445, in *Anais 16º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Goiânia, v. 1, 1991.*

SEAFOODBRASIL. **PLANO DE DESENVOLVIMENTO DA AQUICULTURA.** Disponível em <http://seafoodbrasil.com.br/wp-content/uploads/2015/09/Plano_de_Deenvolvimento_da_Aquicultura-2015-2020.pdf> (SEAFOODBRASIL, 2015)> Acesso em 20 de maio de 2017

SEIFFERT, Walter Quadros. **Modelo de planejamento para a gestão territorial da carcinicultura marinha.** Florianópolis, SC, 2003. 230 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil. POLI, Carlos Rogerio. Aquicultura: experiências brasileiras. Florianópolis, SC: UFSC, CCA, Multitarefa, 2004. 456p

SILVA, M.P.; CAVALLI, D.R.; OLIVEIRA, T.C.R.M. (2006) **Avaliação do Padrão de Coliformes a 45 °C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26, n. 2, p. 352-359.

SILVA, Neuzely; JUNQUEIRA, Valéria Christina Amstalden.; SILVEIRA, Neliane Ferraz de Arruda. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 4ª Edição. São Paulo (SP): Varela, 2010.

STREIT, D. P.; LUPCHINSKI, E.; MOREIRA, H. L M.; RIBEIRO, R. P.; MORAES, G. V. DE; VARGAS, L. D. **Perspectivas atuais da aqüicultura marinha no Brasil.** Ano I(4), Quadrimestral, 2002.

SUPLICY, F. M. SCHIMITT, J. F., MOLTSCHANIWSKYJ, N. A., FERREIRA, J. **F. Modeling of filter-feeding behavior in the brown mussel *Perna perna* (L.) exposed to natural variations of seston availability in Santa Catarina, Brazil.** Journal of Shellfish Research, v. 22, p. 125-134, 2003.

SUPLICY, F. M. **Ensaio sobre a depuração do mexilhão *Perna perna* (L.,1758).** 1998. 81 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

TOURON, A.; BERTHE, T.; GARGALA, G.; FOURNIER, M.; RATAJCZAK, M.; SERVAIS, P.; PETIT, F. (2007) **Assessment of faecal contamination and the relationship between pathogens and faecal bacterial indicators in an estuarine environment (Seine, France).** Marine Pollution Bulletin, v. 54, n. 9, p. 1441-1450

VARELA, E. S.; BEASLEY, C. R.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I.; MARQUES-SILVA, N. do S.; TAGLIARO, A. C. H. **Molecular phylogeny of Mangrove oysters (*Crassostrea*) from Brazil.** Journal of Molluscan Studies, 73, p. 229-234, 2007.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática.** São Paulo: 2004. Ed. Varela, 380p.

VILLARROEL, E.; BUITRAGO, E.; LODEIROS, C. ***Identification of Environmental Factors Affecting Growth and Survival of the Tropical Oyster Crassostrea Rhizophorae in Suspended Culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela***. Revista Científica, 14(1), p.28-35, 2003.

WAKAMATSU, T. **A ostra de Cananéia e seu cultivo**. In: Superintendência do Desenvolvimento do Litoral Paulista e Instituto Oceanográfico – USP, 1973.

WARD, J. E.; Biodynamics of suspension-feeding in adult bivalve molluscs: particle capture, processing and fate. **Invertebrate Biology**, v.115, n.3, p. 218-231, 1996.

YEN, I. C. et al. ***Paralytic shellfish poisoning toxin profiles in green mussels from Trinidad and Venezuela***. Journal of Food Composition and Analysis, v. 19, n. 1, p. 88-94, 2005.

ZAMARIOLI, L. A.; PEREIRA, O. M.; FAUSTINO, J. S.; HENRIQUES, M. B.; VASQUES, R. O.; ANDRADE, T. C. & SANTOS, M. A. **Estudo microbiológico do tecido mole de bivalves Crassostrea brasiliana, Perna perna e Mytella falcata recém coletados nos bancos naturais do litoral da baixada santista**. Relatório Apresentado ao Grupo de Vigilância Sanitária DIR XIX, Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo, 1997.